



TITLE:

計画:10-4 遅延型アレルギー炎症発現におけるマクロファージ由来の血液凝固組織因子の役割(Ⅱ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

今村, 隆寿; 中村, 伸

---

CITATION:

今村, 隆寿 ...[et al]. 計画:10-4 遅延型アレルギー炎症発現におけるマクロファージ由来の血液凝固組織因子の役割(Ⅱ 共同利用研究 2.研究成果). 豊長類研究所年報 1992, 22: 68-68

ISSUE DATE:

1992-10-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164362>

RIGHT:

体を2倍階段で希釈して、室温、3時間で反応させた。プレート洗浄後、抗ヒトIgE・ $\beta$ -D-ガラクトシデース（ファルマシア社）を4℃、一夜反応させた。最後の洗浄後、4-メチルウンベルフェロン- $\beta$ -D-ガラクトシド（シグマ社）を蛍光基質として加え、その蛍光を測定した。

#### 結果および考察

タゴ社の抗ヒトIgE抗体を用いた蛍光サンドイッチELISA法のみがよくニホンザルおよびカニクイザルの血清によく反応した。他の7種の抗ヒトIgE抗体は、いずれのサル血清にも反応しなかった。これらの結果よりサル血清からのIgE抗体の精製にはタゴ社の抗ヒトIgE抗体を用いるのがよいと思われた。

実際の精製の手順としては、この抗体をCNBr-セファロースに固相化し、イムノアドソーベントカラムを作製する。このカラムにサル血清をかけることにより、免疫化学的にサル血清からIgE抗体だけをカラムに捕まえることが可能と考えられる。（研究協力者：阪口雅弘・今岡浩一）

#### 計画：10-4

遅延型アレルギー炎症発現におけるマクロファージ由来の血液凝固組織因子の役割

今村 隆寿（熊本大・免疫研アレルギー）

中村 伸（京都大・霊長研・生化学）

遅延型アレルギー反応（DHR）は結核病巣、接触性皮炎、移植臓器拒絶反応等に見られる細胞性免疫反応である。皮膚DHRの特徴は硬結であり、その主体はフィブリン沈着とマクロファージ浸潤である。マクロファージは種々の刺激により血液凝固反応の開始因子であるtissue factorを発現することが知られており、また、抗血液凝固剤は硬結形成を抑制する事から、マクロファージの発現するtissue factorがDHRの進展に関わっていると考えられる。そこで、DHRの機序解明の一端として、DHR病変部に浸潤したマクロファージのtissue factor発現の有無を免疫組織学的に検討した。

BCG死菌と不完全フロイントアジュバンドのエマルジョンで感作し4週間後にオールド・ツベルクリンで惹起した日本ザルDHR皮膚病変部を採取し、抗組織因子及び抗フィブリン単クローン抗体を用いた間接法で免疫染色を行った。DHR

病変部には強いフィブリンの沈着が真皮深層から表皮下にかけて認められ、浸潤したマクロファージの一部に組織因子の発現が見られた。これらの結果より、DHR炎症では浸潤したマクロファージの一部が発現する組織因子によって血液凝固反応が誘導され、その結果として産生されたフィブリンが沈着し硬結を特徴とするDHR病変を形成していることが示唆された。

#### 計画：10-5

抗ニホンザルおよびIgG、IgM抗体の作製と定量系の開発

寺尾 恵治（予研霊長類センター）

藤本 浩二（社団法人予防衛生協会）

中井 裕（茨城大）

I型（即時型）アレルギー反応に関与するIgE抗体はその血中レベルが100ng/mlと極く低い。ヒトにおいてはIgEの分離精製が可能である。しかし、旧世界サルでは未だそのような症例は発見されておらず、正常血清からIgEを精製しなくてはならない。本研究では、昨年度ニホンザル血清から分離精製したIgE分画についてモノクローナルならびにポリクローナル抗体の精製を試みた。

モノクローナル抗体は、ニホンザルIgE分画をマウスに免疫し、その脾細胞を常法に従いミエロマ細胞と融合した後、抗体陽性のハイブリドーマ細胞株をクローニングして作成した。その結果、12のクローン（A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>10</sub>, B<sub>1</sub>, D<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, G<sub>9</sub>, G<sub>12</sub>）を得た。これらすべてのクローンは、免疫原であるニホンザルIgE分画を抗原としたELISAで全て抗体陽性（0.D.O. 5<）と判定された。しかし、ニホンザル血清のセファクリルS-300ゲル濾過分画を抗原としたELISAではA<sub>5</sub>クローン以外はIgG分画と特異的に反応するパターンを示した。A<sub>5</sub>クローンの培養上清はニホンザルIgG、IgM分画にくわえてヒトミエロマ由来IgEに対しても抗体活性を示した。この結果からA<sub>5</sub>クローンはヒトおよびニホンザル免疫グロブリンのL鎖に共通な抗原を認識するモノクローナル抗体であると考えられる。

以上、本年度の研究ではニホンザルIgEに特異的なモノクローナル抗体は得られなかった。原因としては、まず正常血清から精製したIgE分画からIgGを除去するのが難しかったこと、また吸収除